

AUS DEM RÖNTGENINSTITUT DER UNIVERSITÄT BERN
(DIREKTOR PROF. DR. A. LIECHTI †), DEM PHYSIOLOGISCHEN
INSTITUT (HALLERIANUM) DER UNIVERSITÄT BERN
(DIREKTOR PROF. DR. A. v. MURALT) UND DEM PHARMAKO-
LOGISCHEN INSTITUT (DIREKTOR PROF. DR. W. WILBRANDT)

Der
Einfluß der Röntgen-
und Ultraviolettstrahlen
sowie anderer Agentien
auf Pepsin

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von
ULRICH HAGMANN
aus Olten (Solethurn)

AUS DEM RÖNTGENINSTITUT DER UNIVERSITÄT BERN
(DIREKTOR PROF. DR. A. LIECHTI †), DEM PHYSIOLOGISCHEN
INSTITUT (HALLERIANUM) DER UNIVERSITÄT BERN
(DIREKTOR PROF. DR. A. v. MURALT) UND DEM PHARMAKO-
LOGISCHEN INSTITUT (DIREKTOR PROF. DR. W. WILBRANDT)

Der
Einfluß der Röntgen-
und Ultraviolettstrahlen
sowie anderer Agentien
auf Pepsin

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von
ULRICH HAGMANN
aus Olten (Solothurn)

Auf Antrag von Herrn Prof. Dr. W. Wilbrandt von der
medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 25. Mai 1949.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. J. Dettling



Den Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit bildet eine Reihe von Untersuchungen über die Natur verschiedener Strahlenhämolysen, die im Röntgeninstitut und im Hallerianum der Universität Bern ausgeführt wurden (^{2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11}). Untersucht wurde die Röntgenhämolysen, die Hämolysen auf ultraviolette Bestrahlung und die sensibilisierte Lichthämolysen (photodynamische Hämolysen).

Das wichtigste Ergebnis war, daß die primäre Wirkung bei diesen drei Hämolysenarten eine Aufhebung der normalen Undurchlässigkeit der Erythrocytenmembran für Kationen ist, worauf eine Hämolysen nach dem Mechanismus der «kolloidosmotischen» Hämolysen zustande kommt.

Diese Wirkung auf die Zellmembran erwies sich als eine irreversible Veränderung. Hämolysen tritt nicht nur während der Bestrahlung ein, sondern auch nach Abschluß der Bestrahlung («Nachhämolysen»). Ihre Geschwindigkeit nimmt mit steigender Strahlendosis zu. Aus praktischen Gründen wurde fast ausschließlich mit dieser Nachhämolysen gearbeitet.

Neben den Strahlenhämolysen ließen sich noch eine Reihe von anderen Hämolysentypen auf den gleichen Mechanismus zurückführen. Zahlreiche der auslösenden Agentien (neben der Strahlung Hitze, Säure, Alkali, Alkohol, Chloroform, Äther, Harnstoff, Gallensäuren, synthetische Reinigungsmittel, Salizylat, Rhodanid, Jodid) haben die gemeinsame Eigenschaft, auf Eiweiß denaturierend einzuwirken. Es wurde daher angenommen, daß der gemeinsame Angriffspunkt dieser Hämolysentika im Eiweiß der Zellmembran gelegen ist und daß die Änderung der Membranpermeabilität durch eine Denaturierung des Membran-Eiweißes zustande kommt.

Die Wirkung der denaturierenden Anionen Rhodanid, Salizylat und Jodid bot aus drei Gründen besonderes Interesse.

Erstens erwies sie sich im Gegensatz zur Wirkung der Bestrahlung als reversibel.

Zweitens zeigte sie Beziehungen zur lyotropen Reihe. Es ist seit langem bekannt, daß Anionen sowohl als Kationen zahlreiche kolloid-chemische Wirkungen beeinflussen und daß sich ihre Wirksamkeiten dabei in einer charakteristischen Reihenfolge abstufen, die sich bei den verschiedensten Effekten wiederfindet. Sie wird als lyotrope Reihe bezeichnet und ist offenbar durch entsprechende Abstufungen der Hydratationsenergie bedingt.

Die denaturierenden Anionen Rhodanid und Jodid stehen nun benachbart an dem Ende der Reihe, das geringer Hydratationsenergie entspricht. Es ergab sich daher die Frage, ob ihre Wirkung spezifisch ist oder ob sie charakteristisch ist für Ionen mit geringer Hydratationsenergie und in quantitativ entsprechendem Maße auch von anderen Ionen der lyotropen Reihe ausgeübt wird. Es zeigte sich, daß alle einwertigen Ionen der Reihe qualitativ gleich, nur quantitativ verschieden wirken. Kolloid-osmotische Hämolyse erfolgt spontan in allen Salzlösungen mit einwertigen Anionen. Am schnellsten in solchen mit denaturierenden Anionen, am langsamsten in Chloridlösung. Es handelt sich also um keine spezifische Wirkung.

Die dritte Beobachtung, die die Anionenwirkung betrifft, ist folgende. Alle Strahlenhämolysen (², ⁶, ⁹, ¹¹) zeigten Hämolysegeschwindigkeiten, die sich mit der Art der anwesenden Anionen änderten, und zwar in gleicher Richtung und Reihenfolge wie die viel langsamere Spontanhämolyse. Das heißt auch die Nachhämolyse nach Bestrahlung mit UV oder Röntgen ohne Sensibilisierung oder mit sichtbarem Licht nach Sensibilisierung erfolgt am raschesten in Rhodanid, am langsamsten in Chloridlösung.

Die naheliegendste Annahme wäre zunächst die, daß die denaturierende Wirkung der Bestrahlung und diejenige der Ionen sich addieren. Sie ist aber deshalb nicht möglich, weil in Sulfatlösungen die Nachhämolyse ganz ausbleibt. Bei Addition müßte sie mit derjenigen Geschwindigkeit erfolgen, die durch die Bestrahlungsdenaturierung allein bedingt ist.

Es wurde daher angenommen, daß der «Synergismus» zwischen Bestrahlung und Ionenwirkung der Ausdruck einer Sensibilisierung ist. Die Strahlenwirkung sensibilisiert nach dieser Annahme das Membraneiweiß gegen die Wirkung der einwertigen Anionen. Das ergibt eine widerspruchslose Deutung der Beobachtungen. Ohne einwertige Anionen erfolgt auch nach Bestrahlung keine Hämolyse, bei Anwesenheit einwertiger Anionen erfolgt sie mit stark erhöhter Geschwindigkeit. Die Abstufung der Geschwindigkeiten in verschiedenen Salzlösungen ist qualitativ unverändert (lyotrope Reihe), quantitativ wirkt sich die Sensibilisierung am stärksten aus bei den ohne Sensibilisierung schwächst wirksamen Ionen.

Die Wirkung der Ionen nahm mit sinkender Temperatur zu, was auf eine Bindung der Ionen mit niedriger Bindungsenergie («Adsorption») hinwies.

Die Deutung der Permeabilitätsänderung als eine Änderung am Membraneiweiß legte nahe, entsprechende Untersuchungen an löslichen Eiweißen durchzuführen. In Versuchen mit Methämoglobinlösungen, die sich dafür wegen der Änderung des Absorptionsspektrums bei der Denaturierung besonders eignen, fanden sich einige Parallelen (³, ¹⁰). Man erhält Extinktionsänderungen, die der lyotropen Reihe folgen, sich nicht auf die als «denaturierend» bekannten Endglieder der Reihe beschränken und die gleiche negative Temperaturabhängigkeit zeigen wie die Ionenwirkung am Erythrocyten. Eine sensibilisierende Wirkung der Bestrahlung zeigte sich dagegen nicht.

In der vorliegenden Arbeit wird als weiteres Eiweiß das Pepsin herangezogen. Es zeichnet sich dadurch aus, daß eine Denaturierung des Eiweißmoleküls sich mit Hilfe der Fermentaktivität quantitativ verfolgen läßt.

Es sollte die Frage geprüft werden, ob sich auch hier ähnliche Ionenwirkungen wie an der Erythrocytenmembran und am Methämoglobinmolekül nachweisen lassen, ob sie wie am Erythrocyten reversibel sind, ob durch Bestrahlung eine Sensibilisierung gegenüber diesen Wirkungen zustande kommt und ob auch hier charakteristische Unterschiede zwischen der Strahlendenaturierung und der Ionendenaturierung auftreten.

METHODIK

Es wurde die von Anson¹ beschriebene Methodik der Aktivitätsbestimmung des Pepsins benützt. Sie beruht darauf, daß beim fermentativen Abbau von Methämoglobin durch Pepsin aromatische Aminosäuren freigesetzt werden, deren Konzentration kolorimetrisch mit Hilfe des Phenolreagens von Folin und Ciocalteu⁴ bestimmt werden kann. Wir benutzen zu diesem Zweck eine photoelektrische Anordnung mit einer Natriumdampflampe (Philora SO 300, 63 W) als Lichtquelle, die praktisch monochromatisches

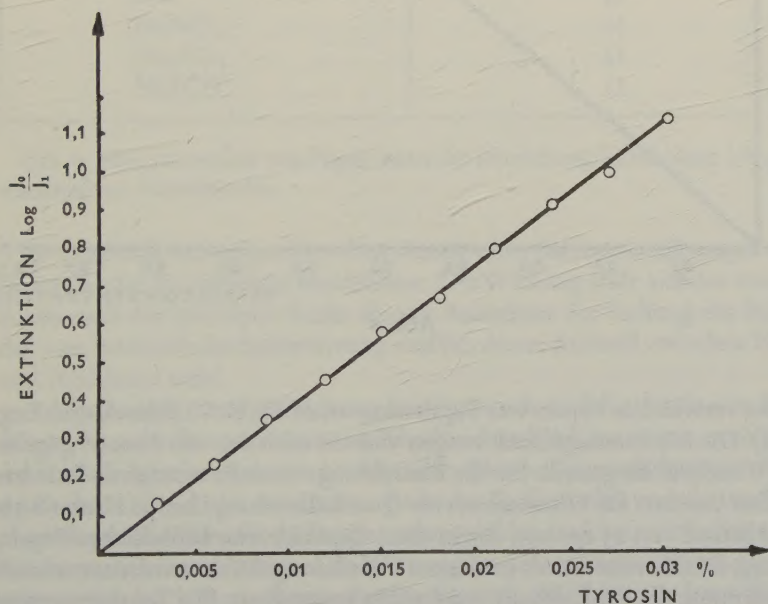


Abb. 1

Licht liefert. Das ermöglicht die exakte Bestimmung von Extinktionskoeffizienten, wodurch man nach Aufnahme einer Eichkurve von Standardlösungen unabhängig wird. Die Eichkurve, die mit Tyrosinlösungen variabler Konzentration aufgenommen wurde, zeigt Abb. 1. Sie ist linear. Wir überzeugten uns auch davon, daß die Abhängigkeit der in einer bestimmten Zeit freigesetzten Phenolkonzentration von der Pepsinkonzentration nahezu linear ist (Abb. 2). Die Steilheit der Kurve hing vom verwendeten Pepsinpräparat ab.

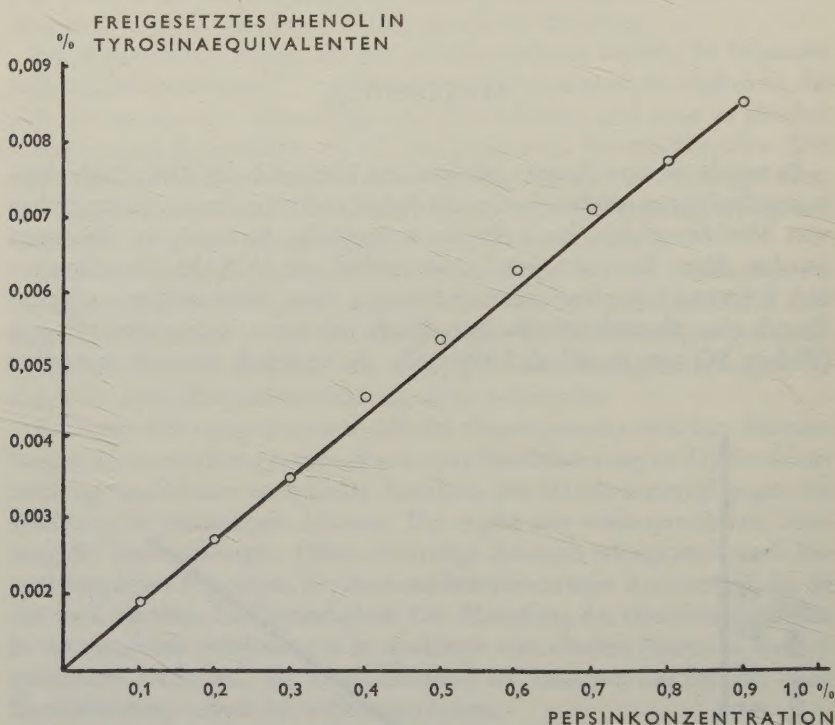


Abb. 2

Das verwendete Pepsin war Pepsinum purum Ph. H. V. (Merck und Siegfried). Die Methaemoglobinlösungen wurden nach der von Anson¹ gegebenen Vorschrift hergestellt. Für die Bestrahlungsversuche wurden als Strahlenquellen benützt: für Ultraviolett eine Quecksilberdampf Lampe Hanau S 300 im Abstand von 23 cm von der in einer Quarzküvette befindlichen Pepsinlösung. Die Küvette wurde mit einem Ventilator gekühlt und die entstehende Erwärmung der Pepsinlösung regelmäßig kontrolliert. Die Temperatur stieg nicht über 26° Celsius.

Für die Röntgenbestrahlungsversuche wurde eine Kontaktstrahlentherapie-
röhre von Metallix verwendet, die eine Strahlendosis von etwa 3000 r pro
Minute lieferte.

RESULTATE

Es wurde zunächst die Frage geprüft, ob Aktivitätsänderungen des Pepsins
durch Zusatz verschiedener Anionen auszulösen sind, ob sie der lyotropen
Reihe folgen und ob sie reversibel sind.

1. Die Wirkung der lyotropen Anionenreihe

Es wurden Verdauungsversuche in halbmolaren Lösungen von NaCl, NaI,
NaNO₃, Na₂SO₄ und NaSCN sowie ohne Salzzusatz durchgeführt, deren
Ergebnis die folgende Tabelle zeigt.

Salz	relative Aktivität
ohne Salzzusatz	100
NaCl	60
NaI	45
NaNO ₃	43
Na ₂ SO ₄	41
NaSCN	35

Tab. 1. Aktivitätsverlust von Pepsin unter der Einwirkung halbmolarer Lösungen
verschiedener Natriumsalze.

Es zeigt sich, daß gegenüber dem Ansatz ohne Salzzusatz alle zugesetzten
Natriumsalze die Aktivität herabsetzen. Die Wirkung stuft sich im wesent-
lichen nach der lyotropen Reihe ab, mit Ausnahme der Stellung des Sulfats,
das eine beträchtliche Inaktivierung auslöst, deren Ausmaß zwischen Nitrat
und Rhodanid steht.

An der inaktivierenden Wirkung beteiligen sich auch hier nicht nur die als
denaturierend bekannten Anionen Rhodanid und Jodid, sondern auch die in
der Reihe folgenden Anionen bis zum Chlorid in kontinuierlicher Abstufung.
Auch das Chlorid, das am andern Ende der Reihe steht, und das auch das
physiologische Milieu für die Pepsinwirkung bildet, inaktiviert in halbmolarer
Konzentration beträchtlich. Die Wirkung ist konzentrationsabhängig und
steigert sich bei höherer Konzentration bis 10% NaCl bis zur fast vollständigen
Inaktivierung. Bei kleineren Konzentrationen wird sie geringer, ist

aber auch in 1% Lösung noch deutlich nachweisbar und nicht unbeträchtlich. Die quantitativen Verhältnisse zeigt Tab. 2.

Konzentration NaCl %	relative Aktivität
ohne Salzzusatz	100
1%	77
2%	60
3%	48
4%	35
5%	23
6%	12
7%	8
8%	5
9%	4
10%	2

Tab. 2. Inaktivierung von Pepsin in Natriumsalzlösungen variabler Konzentration.

2. Die Reversibilität der Ionenwirkung

Um die Reversibilität dieser Wirkungen zu prüfen, wurde folgendermaßen vorgegangen. Es wurden 4 Ansätze mit Pepsin gemacht. Ansatz 1 enthielt Pepsin in Salzsäure ohne Rhodanidzusatz. Ansatz 2 enthielt Pepsin in 2% NaSCN. Ansatz 3 enthielt das Pepsin zunächst in 6% NaSCN, wurde dann aber auf 2% NaSCN für den Verdauungsversuch verdünnt. Ansatz 4 enthielt 6% NaSCN und wurde für den Verdauungsversuch mit der gleichen Rhodanidlösung verdünnt. In den Ansätzen 2, 3 und 4 wirkte also das Rhodanid auf das Pepsin in der Vorperiode in einer Konzentration von 2%, 6% und 6% ein, in der Verdauungsperiode dagegen in der Konzentration von 2%, 2% und 6%. Pepsin und Salzsäurekonzentration waren so gewählt, daß sie im Verdauungsversuch in allen Ansätzen gleich wurden. War die Rhodanidwirkung reversibel, so mußte die Aktivität im Verdauungsversuch nur von der Rhodanidkonzentration in dieser Phase abhängen und unabhängig von der Vorperiode sein, das heißt der Ansatz 3 mußte die gleiche Aktivität zeigen wie der Ansatz 2. Ist dagegen die Rhodanid-Inaktivierung irreversibel, langsam reversibel oder teilweise irreversibel, so mußte die Aktivität in Ansatz 3 derjenigen in Ansatz 4 gleichen oder doch zwischen derjenigen von 2 und 4 liegen.

Das Resultat des Versuches ist eindeutig. Abb. 3 zeigt die gefundenen Aktivitäten, diejenige des rhodanidfreien Ansatzes 1=100 gesetzt. Die Akti-

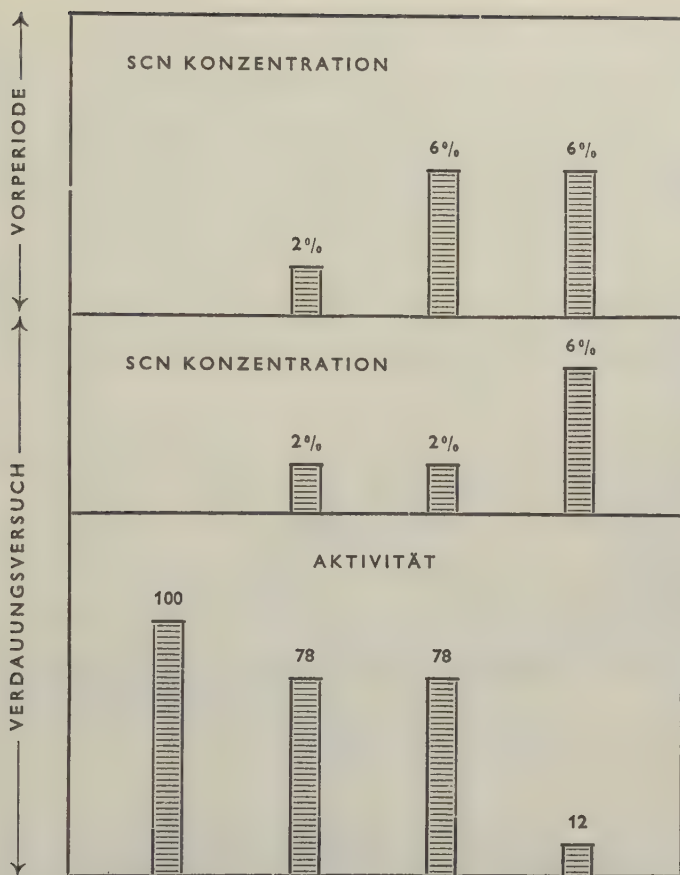


Abb. 3

vitäten der Ansätze 2 und 3 sind genau gleich, 78, die des Ansatzes 4 ist 12. Während also in dem Ansatz mit der Endkonzentration 6% die Aktivität um 88% gesenkt ist, ist sie in Ansatz 3, der während der Vorperiode unter dem Einfluß der gleichen Rhodanidkonzentration stand, unabhängig von dieser Vorbehandlung nur genau auf den Wert abgesunken, der der Endkonzentration während des Verdaunungsversuches entspricht. Die Wirkung des Rhodanids auf die Aktivität erweist sich also als vollständig reversibel.

In der gleichen Versuchsanordnung wurde auch die Reversibilität der Inaktivierung durch Chlorid in hoher Konzentration (vgl. Tab. 2) geprüft, wobei sich das gleiche Resultat ergab.

Die Wirkung der Anionen der lyotropen Reihe auf die Aktivität des Pepsins sind also vollständig reversibel.

3. Inaktivierung durch Bestrahlung

Daß Pepsin durch Bestrahlung inaktiviert werden kann, ist bekannt⁸. Abb. 4 zeigt das Resultat eines eigenen Bestrahlungsversuches mit Ultraviolettstrahlung. Mit zunehmender Strahlendosis nimmt die Aktivität fortschreitend ab. Mit Röntgenbestrahlung wurden entsprechende Resultate erzielt, auf deren Wiedergabe verzichtet wird.

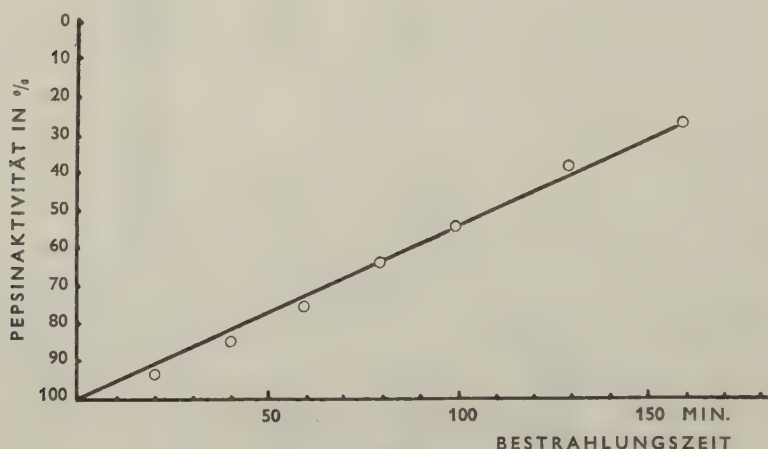


Abb. 4

4. Die Ionenwirkung auf bestrahltes Pepsin

Ausgehend von der Beobachtung, daß an bestrahlten Erythrocyten die Empfindlichkeit gegenüber dem Einfluß der Anionen der lyotropen Reihe sich in charakteristischer Weise ändert, sollte nun versucht werden, zu prüfen, ob am Pepsin ähnliche Änderungen durch Bestrahlung auszulösen sind. Eine prinzipielle Schwierigkeit für diese Prüfung liegt in der von Northrop beobachteten Tatsache, daß bestrahltes Pepsin der Pepsinverdauung zugänglich wird, so daß eine Selbstverdauung eintritt, indem das von der Strahlung noch nicht veränderte Pepsin die strahlendenaturierten Pepsinmoleküle abbaut.

Es wurde zunächst eine Pepsinlösung mit einer Dosis Ultraviolettstrahlung behandelt, die eine deutliche Inaktivierung bewirkt. Mit dieser bestrahlten Lösung wurden dann Verdauungsversuche in verschiedenen Salzlösungen vorgenommen und die Aktivitäten verglichen. Sie stufen sich in genau gleicher Weise ab wie beim nativen Pepsin. Die bestrahlte Lösung verhält sich so wie eine im Verhältnis der Inaktivierung verdünnte Lösung, mit

anderen Worten, so als ob die von der Bestrahlung inaktivierten Moleküle nicht mehr vorhanden wären. Auch hitzeinaktiviertes Pepsin verhält sich gleich. Abb. 5 zeigt eine Versuchsserie, die dieses Verhalten charakterisiert.

Eine ähnliche Veränderung des Eiweißmoleküls, wie sie als Grundlage der Zellmembranveränderung am Erythrocyten angenommen wurde, läßt sich also nicht nachweisen. Die inaktivierten Moleküle sind offenbar unabhängig von der umgebenden Ionenzusammensetzung vollständig ausgeschaltet, während die nichtinaktivierten ganz unverändert und mit gleicher Empfindlichkeit gegenüber den Ionenwirkungen aktiv sind. Mit anderen Worten: die Inaktivierung durch lyotrope Anionen ist eine Eigenschaft des nativen Pepsinmoleküls, die durch Bestrahlung nicht verändert wird. Die Inaktivie-

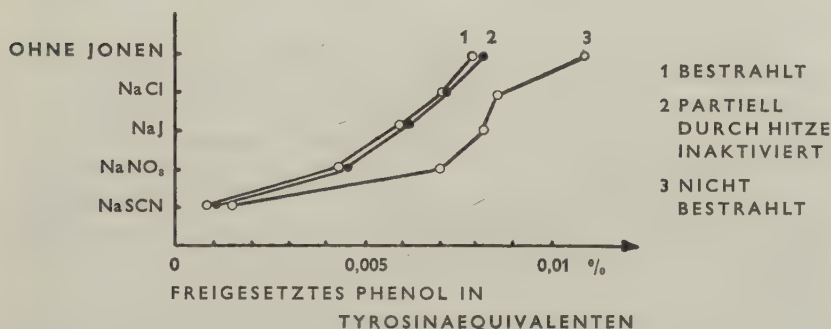


Abb. 5

rung durch Bestrahlung hat mit ihr nichts zu tun und ist ein Alles- oder Nichts-Vorgang.

Während diese Folgerung für die nichtinaktivierten Moleküle schlüssig scheint, besteht bezüglich der inaktivierten Moleküle für die Beurteilung die Schwierigkeit, daß diese Moleküle wie erwähnt durch das aktive Pepsin verdaut werden. Ob dieser Verdauung eine Phase vorausgeht, in der eine veränderte Ionenempfindlichkeit besteht, ist vorläufig nicht zu entscheiden. Es wurde versucht durch Variation des pH und der Temperatur die Selbstverdauung einzuschränken, was aber zu keinem Erfolg geführt hat.

Was aber hervorzuheben ist, ist die Tatsache, daß die Inaktivierung durch Anionen wie Rhodanid und diejenige durch Bestrahlung sich nicht nur wie oben gezeigt in der Reversibilität unterscheiden, sondern in markanter Weise auch darin, daß die durch Rhodanid inaktivierten Moleküle im Gegensatz zu den strahleninaktivierten der Selbstverdauung nicht unterliegen. Darin liegt ein weiterer Hinweis auf die grundsätzliche Verschiedenartigkeit der beiden Wirkungen.

DISKUSSION

Die Untersuchungen gingen aus von Beobachtungen an Erythrocyten, bei denen eiweißdenaturierende Agentien verschiedenster Art eine gemeinsame Wirkung zeigten, nämlich eine charakteristische Änderung der Ionenpermeabilität, die entsprechend der gemeinsamen denaturierenden Eigenschaft der auslösenden Agentien als eine Eiweißdenaturierung gedeutet wurde. Der Versuch, parallele Züge zwischen dieser Wirkung und der Denaturierung des Pepsinmoleküls zu finden, hat in einem Punkt zu positiven Ergebnissen geführt, nämlich im Nachweis der vollständigen Reversibilität der Anionenwirkung und der nur quantitativ abgestuften, qualitativ offenbar gleichartigen Wirkung aller Ionen der lyotropen Anionenreihe vom Rhodanid bis zum Chlorid.

Es hat sich in klarer Weise gezeigt, daß «Denaturierung» durch Bestrahlung und durch Anionen der lyotropen Reihe grundsätzlich verschiedene Moleküländerungen sein müssen. Die Inaktivierung durch Bestrahlung ist irreversibel und das inaktivierte Molekül wird durch aktives Pepsin verdaut. Die Denaturierung durch Ionen ist reversibel und die inaktivierten Moleküle werden vom aktiven Pepsin nicht angegriffen. Auch diese Verschiedenartigkeit der beiden Denaturierungsprozesse stimmt grundsätzlich mit den Schlußfolgerungen aus den entsprechenden Versuchen an roten Blutkörperchen überein.

Eine veränderte Sensibilität des bestrahlten Moleküls gegenüber den Ionen der lyotropen Reihe nach Bestrahlung, wie sie aus den Versuchen an roten Blutkörperchen geschlossen wurde, ließ sich für das Pepsin nicht nachweisen. Dieses negative Resultat ist aber nur schlüssig für die noch aktiven Pepsinmoleküle, während sich die durch die Bestrahlung veränderten durch die Selbstverdauung während der Aktivitätsprüfung der Beurteilung entziehen.

Als Hauptergebnis der Untersuchungen ist die Verschiedenartigkeit der Pepsinaktivierung durch Bestrahlung und durch Anionen der lyotropen Reihe zu betrachten, die einen weiteren Hinweis dafür bilden, daß unter der Bezeichnung «Denaturierung» offenbar sehr heterogene Prozesse zusammengefaßt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Anschluß an Beobachtungen über Ionenpermeabilitätsänderungen an Erythrocyten durch eiweißdenaturierende Agentien, die auf Denaturierung von Membraneiweiß zurückgeführt wurden, wurden Untersuchungen an Pepsinlösungen durchgeführt. Die «Denaturierung» wurde mit der Methode

von Anson am Grad der Inaktivierung des Fermentmoleküls gemessen. Dabei ergaben sich folgende Beobachtungen:

1. Die inaktivierende Wirkung von Anionen der lyotropen Reihe ist nicht auf die als denaturierend bekannten stark wirksamen Ionen Rhodanid, Jodid usw. beschränkt, sondern erstreckt sich in offenbar qualitativ gleicher und nur quantitativ abgestufter Weise auf alle Ionen bis zum Chlorid. Sie nimmt mit steigender Ionenkonzentration zu.

2. Sie ist im Gegensatz zur Strahlendenaturierung vollständig reversibel und die von ihr betroffenen Moleküle werden durch aktives Pepsin nicht verdaut.

3. Die Strahlendenaturierung durch Röntgen- und Ultraviolettstrahlen ist im Gegensatz zur Ionendenaturierung irreversibel und führt zur Pepsin-verdaubarkeit.

4. «Denaturierung» durch Bestrahlung und durch Anionen der lyotropen Reihe sind demnach verschiedene Prozesse.

CURRICULUM VITAE

Am 10. Juli 1919 wurde ich in Olten geboren, wo ich später die Primarschule und die ersten fünf Jahre des Progymnasiums besuchte. Im Herbst 1938 bestand ich in Solothurn die Maturität, studierte dann zwei Semester in Basel, anschließend in Bern, wo ich 1945 das eidgenössische Staatsexamen ablegte. Seither war ich erst als Assistent an der Bündner Heilstätte in Arosa und jetzt an der Universitäts-Kinderklinik in Zürich tätig.

AUTORENREGISTER

- ¹ Anson M. L. The extimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. Journ. of. general. physiol. 22, 79 (1939).
 - ² A. Bühlmann, A. Liechti und W. Wilbrandt, Untersuchungen über Strahlenhämolyse. 2. Mitteilung: Weitere Versuche über Röntgenhämolyse. Strahlentherapie 71, 285 (1942).
 - ³ Eberhard H. Untersuchungen über Denaturierung durch Bestrahlung und andere Agentien an Hämoglobinlösungen. Diss. Bern 1948.
 - ⁴ Folin Otto und Ciocalteu Vintilia: Tyrosin und Tryptophanbestimmung in Proteinen. Journ. of. biological chemistry, 73, 627 (1927).
 - ⁵ Koch A., Untersuchungen über Strahlenhämolyse, 6. Mitteilung. Die osmotische Natur der sensibilisierten Lichthämolyse. Diss. Bern 1945.
 - ⁶ Leu J., W. Wilbrandt und A. Liechti, Untersuchungen über Strahlenhämolyse. 3. Mitteilung: Ultraviolethämolyse. Strahlentherapie 71, 487 (1942).
 - ⁷ Liechti A. und Wilbrandt W. 1941, Untersuchungen über die Strahlenhämolyse. 1. Mitteilung: Hämolyse durch Röntgenstrahlen. Strahlentherapie 70, 541 (1941).
 - ⁸ Northrop John H. Cristalline pepsin 6: Inactivation by beta and gamma rays from radium and by ultra-violet light. Journ. of. general. physiol. 17, 359 (1934).
 - ⁹ Rusch G., Quantitativer Nachweis der kolloidosmotischen Natur der sensibilisierten Lichthämolyse. Diss. Bern 1946.
 - ¹⁰ Vogel Hans, Untersuchungen über Eiweißdenaturierung durch Röntgen- und Ultraviolettstrahlen sowie anderer Agentien. Diss. Bern 1944.
 - ¹¹ Zumbühl E., Versuche über die Natur der Strahlenhämolyse. Diss. Bern 1945.
-

